Ueber das Δ^4-Androstendiol und einige Beiträge zur Physiologie der Pregnangruppe

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
genehmigt
von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin.

Von
Alex Heusner
aus Leverkusen

Tag der Promotion: 16. Juni 1939
Tag der mündlichen Prüfung: 14. Dezember 1938

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.

1939

N 15

Referenten: Professor Dr. Butenandt.

Professor Dr. Leuchs.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern!

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Butenandt in der Zeit vom 1. Dezember 1936 bis zum 1. August 1938 im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie zu Berlin-Dahlem ausgeführt.

Herrn Professor Dr. Butenandt danke ich aufrichtig für die wohlwollende Förderung und Unterstützung meiner Arbeit.

Herrn Dr. Schramm bin ich für wertvolle Anregungen zu Dank verpflichtet.

Ebenso danke ich Frl. D. v. Dresler, Frl. G. Hvardal, Frl. U. Meinerts und Frl. M. Welhaven für die Ausführung der Tierversuche sowie der Schering-Kahlbaum A.-G. für die Überlassung der Ausgangsmaterialien.

I. Über das Δ^4-Androstendiol.

Im Testosteron (I) liegt das höchstwirksame männliche Sexualhormon vor. Die Reduktion seiner Ketogruppe sollte das noch nicht bekannte Δ^4-Androstendiol liefern, das vor allem wegen der bisexuellen Prägung seines Isomeren, des Δ^5-Androstendiols (VI), interessiert. Bereits kurz nach der ersten künstlichen Darstellung des Testosterons (1) wurde mit Reduktionsversuchen an dem neuen Oxyketon begonnen (2). Das Δ^4-Androstendiol wurde in verfilzten Nadeln vom Schmelzpunkt 155,5° (unkorr.)" erhalten. Eine genauere Charakterisierung konnte nicht erfolgen, da die Mengen zu gering waren. Überraschend war aber das Ergebnis der physiologischen Untersuchung: Der neue Stoff schien keinerlei Aktivität zu besitzen.

Bei einer erneuten Ausführung der Reduktion mit Aluminiumisopropylat nach Meerwein-Ponndorf (3) wurde festgestellt, daß der Versuch analog der Reduktion des Δ^4-Cholestenons (4) verlief: Es entstand ein Gemisch zweier Alkohole, die in ihrer Konfiguration dem allo-Cholesterin und dem epi-allo-Cholesterin entsprachen. Die Trennung der beiden, am neu entstandenen Asymmetriezentrum C_3 epimeren, Alkohole gelang leicht durch Digitonin; n-Δ^4-Androstendiol (IIa) bildet eine schwerlösliche Additionsverbindung, während das epi-Δ^4-Androstendiol (IIb) nicht gefällt wird.

n-Δ^4-Androstendiol (IIa) schmilzt bei 154° (unkorr.), die optische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{19} = +48{,}5°$ (in Äthanol). Beim Behandeln mit Essigsäureanhydrid in Pyridin, sowie beim Kochen mit Essigsäureanhydrid liefert es sein Diacetat vom Schmelzpunkt 101 bis 102°. Es ist möglich, daß das früher (2) beschriebene Δ^4-Androstendiol mit diesem Stoff identisch ist.

Das in geringerer Menge entstehende epi-Δ^4-Androstendiol (IIb) besitzt einen Schmelzpunkt von 202 bis 206° und eine optische Drehung von $[\alpha]_D^{22} = +187{,}5^0$ (in Pyridin). Es ist auffallend schwerlöslich in allen Lösungsmitteln, was die Beobachtung der optischen Drehung sowie die physiologische Auswertung sehr erschwert. Bringt man es mit Essigsäureanhydrid in Pyridin zur Reaktion, so entsteht sein Diacetat vom Schmelzpunkt 121°.

Beide Δ^4-Androstendiole geben eine ausgeprägte Rosenheimreaktion (5), d. h. Rotfärbung mit 90%iger Trichloressigsäure. Nach Schoenheimer (6) ist diese Reaktion, die z. B. von Testosteron (I) und Dehydroandrosteron (VII) nicht gegeben wird, charakteristisch für α,β-ungesättigte Steroidalkohole.

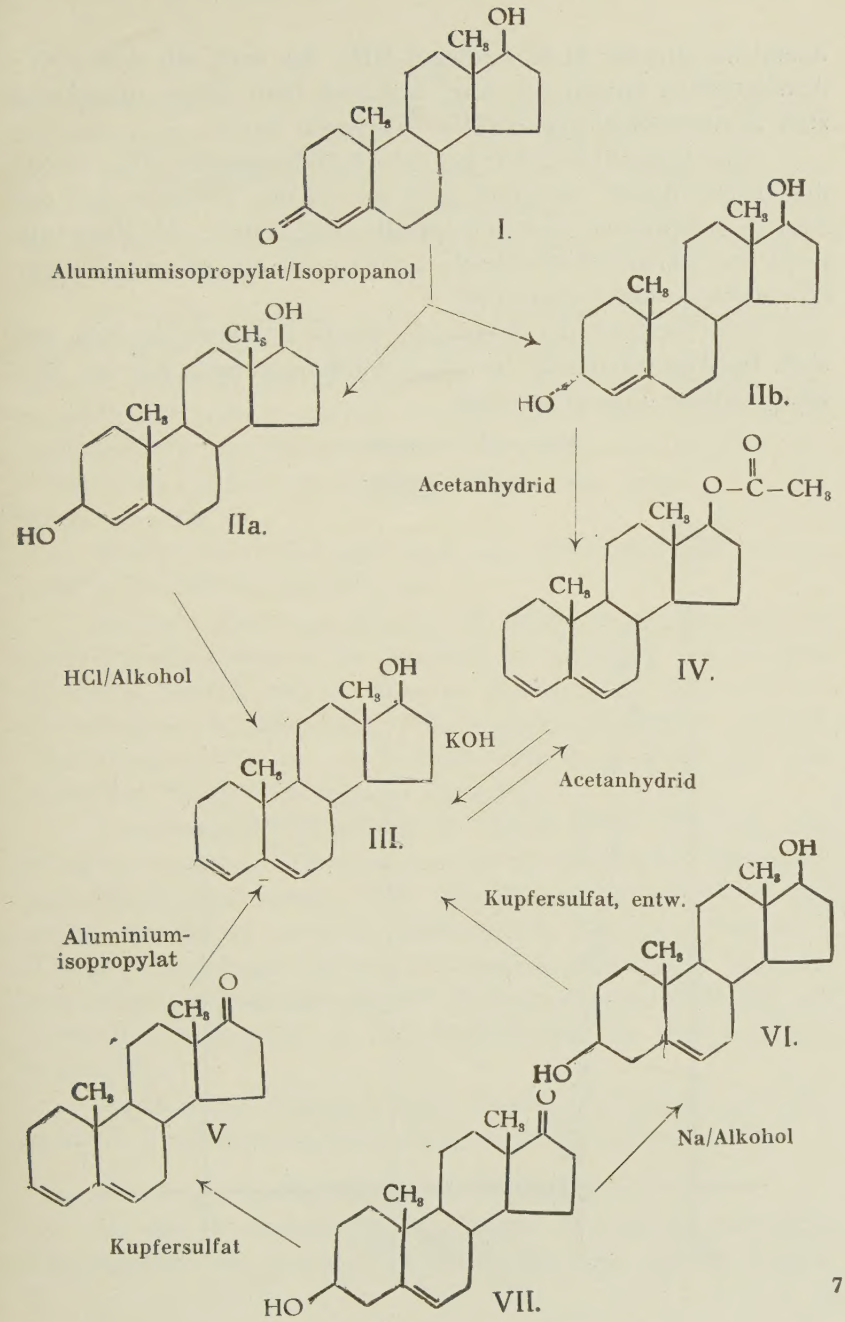
Weiterhin zeigt ein Vergleich der optischen Drehungen, daß sich die Doppelbindung in der angenommenen Lage (Δ^4) befindet.

Tabelle 1.

Cholesterin (Δ^5)	— 37,5° (7)	allo-Cholesterin (Δ^4) . .	+ 43,7° (4)
epi-Cholesterin (Δ^5) . .	— 35° (7)	epi-allo-Cholesterin (Δ^4) .	+ 120,8° (4)
Δ^5-Androstendiol . . .	— 49° (8)	Δ^4-Androstendiol . . .	+ 48,5°
epi-Δ^5-Androstendiol . .	— 56° (8)	epi-Δ^4-Androstendiol . .	+ 187,5°

Auch hier wird die Regel bestätigt, daß eine Verschiebung der Doppelbindung von Δ^5 nach Δ^4 durch eine Änderung der spezifischen Drehung von negativen zu positiven Werten angezeigt wird (7).

Behandelt man nach Schoenheimer (4) allo-Cholesterin und epi-allo-Cholesterin mit alkoholischer Salzsäure, so gehen beide unter Wasserabspaltung in ein Cholestadien über, das nach Stavely und Bergmann (7) die Struktur des Cholesterylens ($\Delta^{3,5}$-Cholestadien) besitzt. Die Δ^4-Androstendiole zeigen ein analoges Verhalten. n-Δ^4-Androstendiol (IIa) spaltet unter den Schoenheimerschen Versuchsbedingungen quantitativ 1 Mol. Wasser ab und geht in ein Androstadienol (III) über. Noch leichter reagiert das epi-Δ^4-Androstendiol (IIb), das bereits beim Erhitzen mit Essigsäureanhydrid Wasser abspaltet und in das Acetat (IV) eines Androstadienols übergeht. Beim Verseifen erhält man aus diesem


OH
CH3
CH3
O
I.
Aluminiumisopropylat/Isopropanol
OH
CH3
CH3
HO
IIb.
OH
CH3
CH3
HO
IIa.
Acetanhydrid
O
O–C–CH3
CH3
CH3
IV.
HCl/Alkohol
OH
CH3
CH3
III.
KOH
Acetanhydrid
Aluminium-
isopropylat
O
CH3
CH3
V.
Kupfersulfat, entw.
OH
CH3
CH3
HO
VI.
Kupfersulfat
O
CH3
CH3
HO
VII.
Na/Alkohol

Acetat das gleiche Androstadienol (III), das auch aus dem n-Δ^4-Androstendiol entstanden war, während man dieses umgekehrt zum Androstadienolacetat (IV) acetylieren kann.

Die Beobachtung, daß das epi-Δ^4-Androstendiol (IIb) besonders leicht Wasser abspaltet, paßt gut zu der Tatsache, daß das sterisch entsprechend gebaute epi-allo-Stigmasterin (9) überhaupt nicht rein isoliert werden kann, sondern nur mit seinem Wasserabspaltungsprodukt zusammen.

Ein Vergleich der Drehungen macht es wahrscheinlich, daß auch im Androstadienol die Doppelbindungen nach Art des $\Delta^{3,5}$-Cholestadiens angeordnet sind.

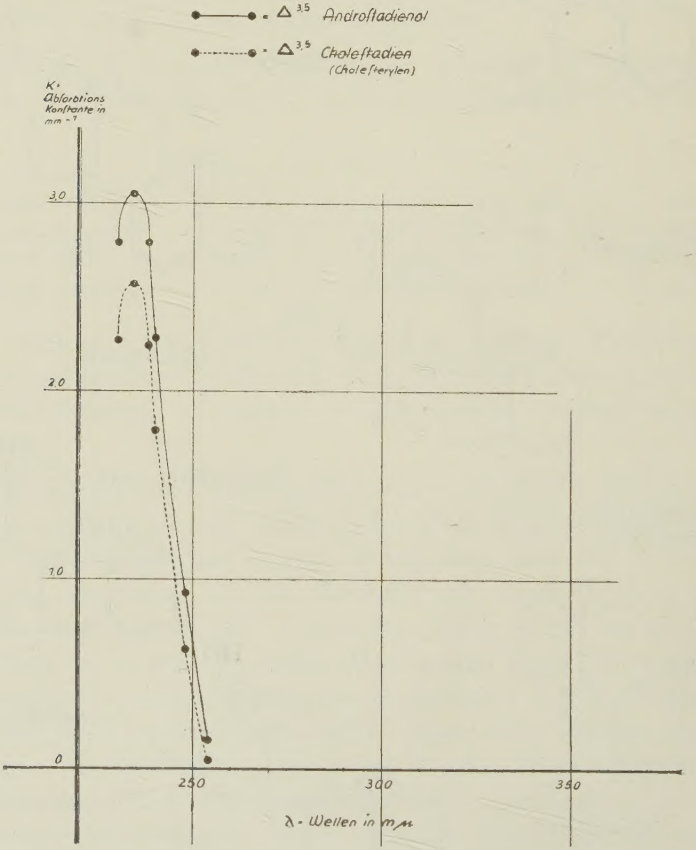


Tabelle 2.

$\Delta^{3,5}$-Cholestadien . . .	$-112{,}5^0$ (7)	$\Delta^{2,4}$-Cholestadien . . .	$+168{,}5^0$ (10)
$\Delta^{3,5}$-Androstadienol . .	$-123{,}2^0$	$\Delta^{2,4}$-Androstadienol . .	$+10^0$? (11)

Den endgültigen Beweis bringt die Ultraviolettabsorption mit dem für konjugierte Doppelbindungen charakteristischen Maximum von 234 mμ, wenn diese Doppelbindungen auf zwei Ringe verteilt find.

$\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III) krystallisiert aus verdünntem Alkohol in verfilzten Nadeln vom Schmelzpunkt 146° (unkorr.), die optische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{22} = -123{,}2^0$ (in Alkohol). Die Krystalle schließen hartnäckig Wasser ein, so daß keine richtigen Analysenwerte zu erhalten waren. Das Androstadienolacetat (IV) schmilzt bei 122 bis 123° (unkorr.) und hat eine optische Drehung $[\alpha]_D^{19} = -147{,}4^0$.

Interessanterweise gibt auch das $\Delta^{3,5}$-Androstadienol eine positive Rosenheim-Reaktion (5).

Burrows, Cook und Mitarb. (12) haben vor einiger Zeit aus dem Harn eines Mannes, der an einem Nierentumor erkrankt war, ein neues Steroid isoliert, dem sie die Struktur eines $\Delta^{3,5}$-Androstadienons (V) zuschreiben. Sie gelangen nämlich zur gleichen Verbindung, indem sie aus Dehydroandrosteron (VII) mit entwässertem Kupfersulfat Wasser abspalten.

Erwartungsgemäß gelang es, dieses Keton (V) mit dem $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III) experimentell zu verknüpfen. Reduziert man Dehydroandrosteron (VII) zum Δ^5-Androstendiol (VI) und spaltet aus diesem nach der Methode von Burrows, Cook u. a. Wasser ab, so gelangt man zum $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III). Andererseits liefert die Reduktion des $\Delta^{3,5}$-Androstadienons (V) selbst mit Aluminium-isopropylat in Isopropylalkohol das $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III).

Durch diese Übergänge kann die Konstitution der neu dargestellten Testosteronderivate als gesichert betrachtet werden.

Physiologische Prüfung.

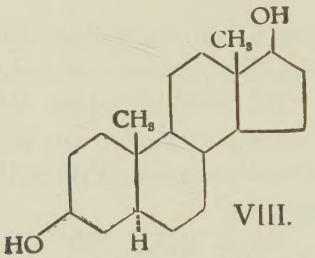
In den Δ^4-Androstendiolen liegen hochaktive männliche Prägungsstoffe vor. Das n-Δ^4-Androstendiol (IIa) ruft im Kapau-

nentest nach Butenandt und Tscherning (13) (zweimalige intramuskuläre Injektion in öliger Lösung) mit 150 γ verabreicht ein Kammwachstum von 20 % hervor.

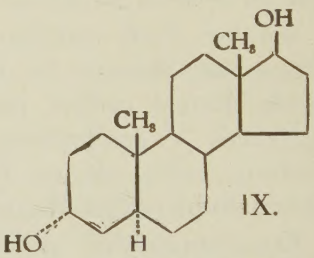
Tabelle 3.

Datum:	Dosierung:	Wachstum (Mittel aus drei Tieren):
5. V. 37	2 × 1 mg	44,0 %
10. V. 37	2 × 600 γ	29,0 %
10. V. 37	2 × 300 γ	32,3 %
1. VI. 37	2 × 200 γ	23,3 %
15. VI. 37	2 × 150 γ	21,9 %
22. VI. 37	2 × 150 γ	18,7 %
18. V. 37	2 × 100 γ	10,0 %

Das n-Δ^4-Androstendiol ist also um ein geringes wirksamer als Androsteron (XVIII), womit die früher gemachte Angabe (2) über seine Inaktivität berichtigt wird. Die sterisch entsprechend gebauten Verbindungen Δ^5-Androstendiol (VI) und Isoandro-



VIII.



IX.

standiol (VIII) sind wesentlich schwächer aktiv (sie erreichen die Kapauneneinheit mit 2 × 1,3 mg bzw. 2 × 1,5 mg), so daß durch Verlagerung oder Absättigung der Doppelbindung die männliche Wirksamkeit stark zurückgeht.

Das epi-Δ^4-Androstendiol ist im Kapaunentest bei Injektion ebenfalls mit 150 γ wirksam.

Tabelle 4.

Datum:	Dosierung:	Wachstum (Mittel aus drei Tieren):
8. VI. 37	2 × 300 γ	36,0 %
15. VI. 37	2 × 200 γ	34,0 %
22. VI. 37	2 × 175 γ	24,7 %
22. VI. 37	2 × 150 γ	18,0 %
29. VI. 37	2 × 150 γ	19,8 %
1. VI. 37	2 × 100 γ	7,35 %

In diesem Falle ist also die Stellung der Hydroxylgruppe am C_3 ohne Bedeutung, während beim Übergang vom Isoandrostandiol (VIII) zum entsprechend gebauten („epi"-)Androstandiol (IX) die Aktivität beträchtlich gesteigert wird ($2 \times 50\,\gamma$).

Im Kapaunentest nach Fußgänger (14) (direktes Aufpinseln der öligen Lösung auf den Kamm) zeigen sich beide Verbindungen ebenfalls hochwirksam. Das n-Δ^4-Androstendiol erzielt mit einer fünffachen Verabreichung von $1{,}5\,\gamma$ das der Einheit des Fußgängertestes zugeordnete Flächenwachstum von 30 %.

Tabelle 5.

Datum:	Dosierung:	Wachstum (Mittel aus drei Tieren):
13. VII. 37	$5 \times 7{,}5\,\gamma$	84,7 %
20. VII. 37	$5 \times 1{,}5\,\gamma$	32,5 %
2. IX. 37	$5 \times 1{,}5\,\gamma$	29,1 %

In diesem Test tritt, wie auch bei den Androstandiolen (VIII und IX) und ähnlichen Verbindungen, eine Wirkungssteigerung durch Umkehrung der Hydroxylgruppe am C_3 in „epi"-Stellung ein: Das epi-Δ^4-Androstendiol erreicht mit $5 \times 0{,}5\,\gamma$ sogar die wirksame Dosis des Testosterons.

Tabelle 6.

Datum:	Dosierung:	Wachstum (Mittel aus drei Tieren):
2. XI. 37	$5 \times 1{,}5\,\gamma$	45,5 %
16. XI. 37	$5 \times 1{,}0\,\gamma$	55,8 %
16. XI. 37	$5 \times 0{,}5\,\gamma$	32,0 %

Neben den Auswertungen am Kapaun wurde das n-Δ^4-Androstendiol im Vesiculardrüsentest untersucht (15). Als Einheit wird diejenige Dosis definiert, die die Samenblasen infantiler Rattenmännchen zur Norm entwickelt. Wesentlicher als das äußere Wachstum ist der histologische Befund, der den Übergang der Drüsenzellen in einen sezernierenden Zustand zeigt.

Diesen Zustand erreicht man mit einer achtmaligen Gabe von $750\,\gamma$ n-Δ^4-Androstendiol. Da auch das Isoandrostandiol (VIII) und das Δ^5-Androstendiol (VI) mit $750\,\gamma$ wirksam sind, machen sich im Vesiculardrüsentest die Lage und das Vorhandensein der Doppelbindung nicht bemerkbar.

Auch als weiblicher Prägungsstoff ist das n-Δ^4-Androstendiol wirksam. Im Allen-Doisy-Test (16) konnte mit 4×1 mg bei 50 % der Versuchstiere (kastrierte weibliche Mäuse) Vollbrunst ausgelöst werden. Im Vaginalöffnungstest (17) bewirken 6×1 mg bei der infantilen weiblichen Ratte vorzeitige Öffnung der Vagina mit anschließender Vollbrunst. Die Zahl der bisexuellen Prägungsstoffe (18) ist also um einen vermehrt worden. Die östrogenen Eigenschaften des n-Δ^4-Androstendiols sind allerdings wesentlich geringer als die des Δ^5-Androstendiols, das nach wie vor der charakteristische Vertreter dieser Gruppe bleibt.

Aus Materialmangel konnte das epi-Δ^4-Androstendiol nicht im Vesiculardrüsentest und nicht auf östrogene Wirksamkeit geprüft werden.

Auch das $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III) ist noch schwach männlich wirksam, nämlich mit $5 \times 100\,\gamma$ im Fußgängertest. Burrows u. a. (12) berichten ebenfalls über eine geringe Aktivität ihres $\Delta^{3,5}$-Androstadienons (V) (300—400 γ im Kapaunentest). In einer Bestätigung ihrer Angaben erwies sich das Keton etwas schwächer wirksam als der Alkohol.

Tabelle 7.

Substanz:	Dosierung:	Wachstum (Mittel aus 3 Tieren):
$\Delta^{3,5}$-Androstadienol	$5 \times 100\,\gamma$	31,0 %
$\Delta^{3,5}$-Androstadienon	$5 \times 100\,\gamma$	25,9 %

Daraus geht hervor, daß das gänzliche Verschwinden funktioneller Gruppen aus dem Ring A noch nicht das Verschwinden der physiologischen Aktivität zur Folge haben muß.

Beschreibung der Versuche.

Reduktion des Testosterons.

1 g Testosteron wurde in 150 ccm absolutem Isopropylalkohol gelöst. Die Lösung wurde mit 10 g frisch destilliertem Aluminiumisopropylat versetzt und einer langsamen Destillation unterworfen, so daß in 1 Minute etwa 2 Tropfen Isopropanol übergingen. Die Destillation wurde solange fortgesetzt, bis im

übergehenden Lösungsmittel mit der Legalschen Probe kein Aceton mehr nachgewiesen werden konnte, was nach 8 Stunden der Fall war. Dann wurde der Rest des Alkohols schnell abdestilliert und der Rückstand unter kräftigem Rühren in 200 ccm kaltes Wasser gegossen. Das Reduktionsprodukt wurde mit Äther extrahiert; es blieb nach dem Abdampfen des Lösungsmittels als lockeres weißes Pulver zurück. Ausbeute 950 mg.

Isolierung des epi-Δ^4-Androstendiols (IIb): Das Reduktionsprodukt wurde in 100 ccm absolutem Alkohol und in der Hitze mit einer Lösung von 2 g Digitonin in einer Mischung von 170 ccm Alkohol und 30 ccm Wasser versetzt. Nach 24 Stunden hatte sich die Digitonin-Additionsverbindung abgeschieden; sie wurde abfiltriert. Ein weiterer Anteil des Digitonids fiel beim Einengen des Filtrats aus.

Das Filtrat wurde anschließend mit Äther ausgeschüttelt und das Digitonid mit absolutem Äther extrahiert. Die ätherischen Auszüge wurden vereinigt und eingedampft, wobei das epi-Δ^4-Androstendiol als feste weiße Masse hinterblieb. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigester und aus Äthanol wurde es in farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 202 bis 206° (unkorr.) erhalten. Ausbeute 115 mg. Im Mikroschmelzpunktsapparat nach Kofler schmolz das epi-Δ^4-Androstendiol bei 197 bis 200°. Bei längerem Aufbewahren sank der Schmelzpunkt des Präparates.

4,342 mg Sbst.: 12,530 mg CO_2, 4,050 mg H_2O

$C_{19}H_{30}O_2$. Ber. C 78,55 H 10,42

Gef. C 78,73 H 10,44

Bestimmung der optischen Drehung: 4,4 mg Substanz gelöst in 5 ccm trocknem Pyridin. l = 2 dm

$\alpha_o = +0{,}38°$ $[\alpha]_D^{22} = +187{,}5°$.

Isolierung des n-Δ^4-Androstendiols (IIb): Die Digitonin-Additionsverbindung (2,1 g) wurde in 40 ccm trocknem Pyridin gelöst und mit 300 ccm absolutem Äther versetzt. Das ausgefallene Digitonin wurde abfiltriert und das ätherische Filtrat mit 2n-Schwefelsäure, Natriumbicarbonatlösung

und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen und Eindampfen der ätherischen Lösung blieb das n-Δ^4-Androstendiol als weiße Masse zurück, die mehrmals aus verdünntem Aceton umkrystallisiert wurde. Es bildet feine weiße Krystalle vom Schmelzpunkt 153 bis 154° (unkorr.). Ausbeute 450 mg.

4,889 mg Sbst.: 14,050 mg CO_2, 4,520 mg H_2O

$C_{19}H_{30}O_2$. Ber. C 78,55 H 10,42
Gef. C 78,40 H 10,35

Bestimmung der optischen Drehung: 16,9 mg Substanz gelöst in 2 ccm absolutem Alkohol. l = 1 dm

$\alpha_0 = +0{,}42^0$ $[\alpha]_D^{19} = +48{,}52^0$.

n-Δ^4-Androstendiol-diacetat.

50 mg n-Δ^4-Androstendiol (IIa) wurden in 2 ccm trocknem Pyridin gelöst und mit 1 ccm Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 24 Stunden wurde die Lösung in Wasser gegossen und ausgeäthert; die ätherische Lösung wurde mit 2n-Schwefelsäure, Bicarbonatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es blieb ein Öl zurück, das mit verdünntem Alkohol zum Krystallisieren gebracht wurde. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren wurde das Diacetat in glänzend weißen Blättchen vom Schmelzpunkt 101 bis 102° (unkorr.) erhalten.

4,105 mg Sbst.: 11,145 mg CO_2, 3,380 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_4$. Ber. C 73,75 H 9,16
Gef. C 74,05 H 9,21

epi-Δ^4-Androstendiol-diacetat.

25 mg epi-Δ^4-Androstendiol (IIb) wurden mit 2 ccm trocknem Pyridin und 1 ccm Essigsäureanhydrid übergossen und 24 Stunden geschüttelt. Anschließend wurde die nunmehr klare Lösung in Wasser gegossen, ausgeäthert und in der üblichen Weise aufgearbeitet. Das Diacetat wurde einigemale aus verdünntem Äthanol umkrystallisiert und so in farblosen Blättchen vom Schmelzpunkt 121° (unkorr.) erhalten.

3,202 mg Sbst.: 8,665 mg CO_2, 2,640 mg H_2O

$C_{23}H_{34}O_4$. Ber. C 73,75 H 9,16
Gef. C 73,80 H 9,22

Bestimmung der optischen Drehung: 10,5 mg Substanz gelöst in 2 ccm absolutem Alkohol. $l = 1$ dm

$$\alpha_o = +1{,}15^0 \qquad [\alpha]_D^{20} = +219^0.$$

$\Delta^{3,5}$-Androstadienol.

50 mg n-Δ^4-Androstendiol (IIa) wurden in 6 ccm 95%igem Alkohol gelöst und mit 0,2 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt. Diese Lösung wurde 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht und anschließend in Wasser gegossen und ausgeäthert. Nach dem Trocknen und Eindampfen der ätherischen Lösung blieb das rohe $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III) in verfilzten weißen Nadeln zurück. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol bildete es weiße Nadeln vom Schmelzpunkt 146° (unkorr.).

Trotz tagelangen Trocknens im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 70 bis 80° war die Substanz nicht völlig vom Krystallwasser zu befreien.

5,152 mg Sbst.: 15, 605 mg CO_2, 4,840 mg H_2O

$C_{19}H_{28}O$. Ber. C 83,70 H 10,36

Gef. C 82,61 H 10,51

Einige Analysen deuteten auf ein halbes Mol. gebundenes Wasser.

4,115; 5,270 mg Sbst.: 12,140; 15,625 mg CO_2, 3,760; 4,830 mg H_2O

$C_{19}H_{28}O + \frac{1}{2} H_2O$. Ber. C 81,02 H 10,39

Gef. C 80,46; 80,86 H 10,23; 10,25

Bestimmung der optischen Drehung: 15,1 mg Substanz gelöst in 2 ccm absolutem Alkohol. $l = 1$ dm

$$\alpha = -0{,}93^0 \qquad [\alpha]_D^{21} = -123{,}2^0$$

Bei der Wasserabspaltung aus n-Δ^4-Androstendiol mit Kupfersulfat nach der Methode von Burrows, Cook u. a. (12) entstand ebenfalls $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III).

$\Delta^{3,5}$-Androstadienol-acetat.

a) Aus Androstadienol: 40 mg rohes, nach der obigen Methode gewonnenes, $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III) wurden mit 2 ccm Essigsäureanhydrid 1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt.

Dann wurde die Lösung in Wasser gegossen, wobei sich nach einiger Zeit Androstadienol-acetat (IV) in Blättchen abschied. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol wurde es in farblosen gefiederten Platten erhalten. Diese erwiesen sich als identisch durch Mischschmelzpunkt und Drehung mit dem Acetat, das durch Erhitzen von epi-Δ^4-Androstendiol (IIb) mit Essigsäureanhydrid nach folgender Methode entstanden war.

b) Aus epi-Δ^4-Androstendiol: 50 mg epi-Δ^4-Androstendiol (IIb) wurden mit 5 ccm Essigsäureanhydrid eine Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Anschließend wurde die klare Lösung in 30 ccm heißes Wasser gegossen und solange geschüttelt, bis alles Essigsäureanhydrid hydrolysiert war. Hierbei schied sich das Acetylierungsprodukt in weißen Blättchen ab, die abfiltriert und mit Wasser gewaschen wurden. Der Schmelzpunkt betrug 122 bis 123° (unkorr.) nach dreimaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol.

3,584 mg Sbst.: 10,550 mg CO_2, 3,110 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_2$. Ber. C 80,14 H 9,62

Gef. C 80,28 H 9,71

Bestimmung der optischen Drehung: 15,2 mg Substanz gelöst in 2 ccm absolutem Alkohol. $l = 1$ dm

$\alpha^0 = -1{,}120$ $[\alpha]_D^{19} = -147{,}4^0$.

Wasserabspaltung aus Δ^5-Androstendiol.

30 mg Δ^5-Androstendiol (VI) (Darstellung nach Butenandt und Hanisch [19]) wurden nach der von Burrows, Cook, Roe und Warren (12) für die Entwässerung von Dehydroandrosteron (VII) angegebenen Methode mit der gleichen Menge wasserfreiem Kupfersulfat behandelt. Es ergaben sich 15 mg eines weißen Sublimats, das nach zweimaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol den Schmelzpunkt des $\Delta^{3,5}$-Androstadienols (III) zeigte und, mit diesem gemischt, keine Schmelzpunktsdepression zeigte.

Reduktion von $\Delta^{3,5}$-Androstadienon.

35 mg $\Delta^{3,5}$-Androstadienon (V) (Darstellung nach Burrows usf. [12]) wurden in 50 ccm absolutem Isopropylalkohol gelöst

und mit 2 g frisch destilliertem Aluminiumisopropylat reduziert. Die Reaktion dauerte 3 Stunden, worauf die Aufarbeitung in der üblichen Art erfolgte. Zur Reinigung wurde das Reduktionsprodukt im Vakuum der Wasserstrahlpumpe bei 150° sublimiert und anschließend aus verdünntem Alkohol umkristallisiert. Es erwies sich als $\Delta^{3,5}$-Androstadienol (III). Ausbeute 12 mg.

Verseifung des $\Delta^{3,5}$-Androstadienol-acetates.

50 mg $\Delta^{3,5}$-Androstadienol-acetat (IV) wurden mit 15 ccm 1n-methylalkoholischer Kalilauge 30 Minuten gekocht. Anschließend wurde die Lösung in Wasser gegossen, ausgeäthert, die ätherische Lösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand bestand aus den verfilzten weißen Nadeln des $\Delta^{3,5}$-Androstadienols (III), das durch Mischschmelzpunkt identifiziert wurde.

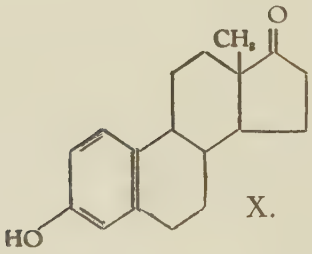
Zusammenfassung.

1. Durch Reduktion des Testosterons wurden die beiden Δ^{4}-Androstendiole (20) erhalten, die sich als hochaktive männliche Prägungsstoffe mit gleichzeitiger schwacher weiblicher Wirksamkeit erwiesen.

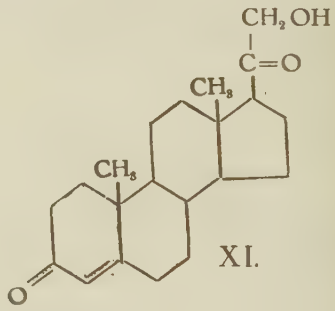
2. Durch Wasserabspaltung entstand aus den beiden Δ^{4}-Androstendiolen das gleiche $\Delta^{3,5}$-Androstadienol, das sich zu dem von Burrows und Cook dargestellten $\Delta^{3,5}$-Androstadienon in Beziehung bringen ließ. Auch das Androstadienol ist schwach männlich wirksam.

II. Beiträge zur Physiologie der Pregnangruppe.

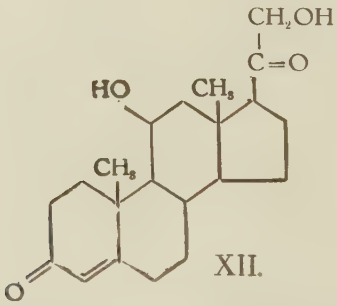
Bei den männlichen Sexualhormonen vom Typus des Testosterons (I) und den weiblichen vom Typus des Östrons (X) ist die physiologische Wirksamkeit keine streng spezifische. Es gibt eine Reihe von Derivaten dieser Stoffe, die ebenfalls noch männlich bzw. weiblich wirksam sind. Darüber hinaus vermögen mehrere Substanzen nach beiden Richtungen hin zu wirken (18).



X.



XI.



XII.

Anders liegen die Verhältnisse in der Pregnangruppe, die sich von den oben genannten Stoffen durch die Seitenkette von zwei C-Atomen unterscheidet. Hier begegnen uns in der Natur an physiologisch wirksamen Vertretern nur das Hormon des Corpus luteum, das Progesteron (XI), und die Hormone der

Nebennierenrinde, die sich wie das Corticosteron (XII) durch einen höheren Sauerstoffgehalt auszeichnen (21). Alle übrigen Stoffe der Pregnangruppe besitzen weder die schwangerschaftserhaltende Wirkung des Progesterons noch Cortinaktivität.

Im Jahre 1937 berichtete Marker (22) über einen Stoff der Pregnangruppe, das epi-allo-Pregnanolon (XVI), dem eine starke männliche Wirksamkeit zukommen sollte (23).

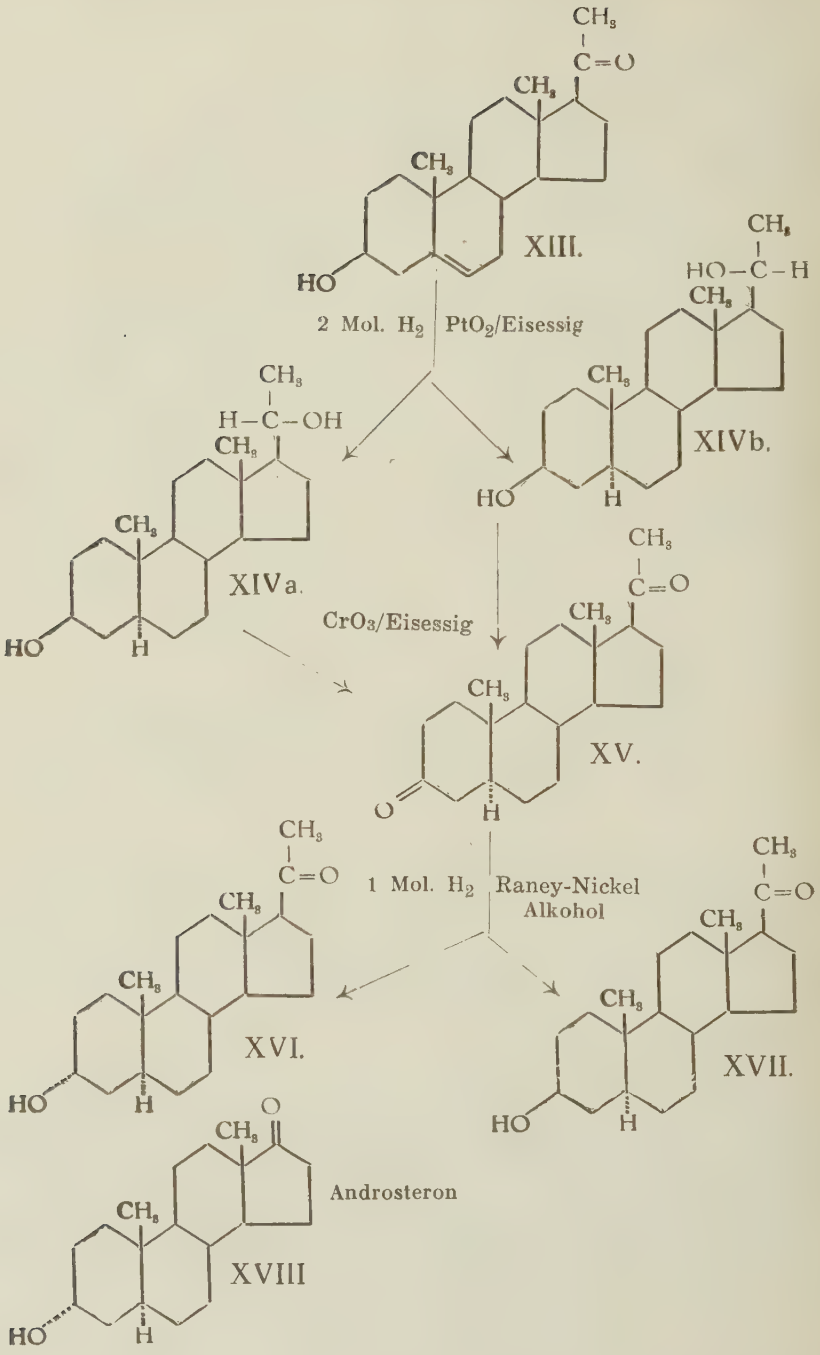
Die schon länger bekannte Tatsache, daß Extrakte aus Schwangerenharn männlich wirksam sind (24), hatte man auf das Vorkommen eines hochaktiven männlichen Prägungsstoffes, also etwa des Testosterons (I) oder des Androsterons (XVIII), zurückgeführt. Nach Marker sollte aber dem epi-allo-Pregnanolon die Rolle des männlichen Prinzips zukommen. Die Konstitution des neu entdeckten Steroides bewies er durch künstliche Darstellung (25). Dieses so überraschende Ergebnis, daß unter den physiologisch unwirksamen Vertretern der Pregnangruppe plötzlich ein Stoff mit der Aktivität des Androsterons aufgefunden wurde, war die Veranlassung zu folgenden Arbeiten (26):

1. Nachprüfung der Markerschen Ergebnisse.
2. Untersuchung aller bisher bekannten Pregnanstoffe (soweit zugänglich) auf männliche Wirksamkeit.

Darstellung von epi-allo-Pregnanolon.

Marker hatte das epi-allo-Pregnanolon (XVI) durch partielle Oxydation von allo-Pregnandiol dargestellt. Da allo-Pregnandiol nur in geringer Menge aus Schwangerenharn zugänglich ist (27), wurde als Ausgangsmaterial das technische Produkt Pregnenolon (XIII) gewählt.

Pregnenolon wurde in einer Vereinfachung des von Butenandt und Fleischer (28) angegebenen Verfahrens mit Platinoxyd nach Adams-Shriner (29) erschöpfend hydriert, wobei ein Gemisch der am Kohlenstoffatom C_{20} isomeren allo-Pregnandiole (XIVa und b) entstand. Bei der anschließenden Oxydation mit Chromsäure gaben beide Epimeren das gleiche allo-Pregnandion (XV), das nun noch partiell hydriert werden mußte. Als zweck-


XIII.
2 Mol. H_2 PtO_2/Eisessig
XIVb.
XIVa.
CrO_3/Eisessig
XV.
1 Mol. H_2 Raney-Nickel Alkohol
XVI.
XVII.
Androsteron
XVIII

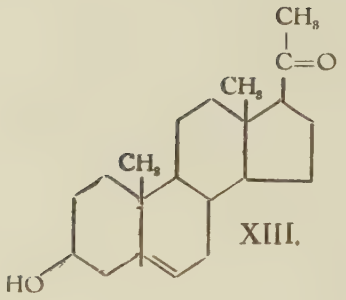
mäßiger Katalysator erwies sich Raney-Nickel. Wie ein Vorversuch zeigte, wirkt es im Falle des allo-Pregnandions selektiv, d. h. nur die Ketogruppe am C_3 wird hydriert: allo-Pregnanolon (XVII) wurde auch bei mehrstündigem Schütteln mit Raney-Nickel und Wasserstoff nicht angegriffen!

Auf Grund dieser Ergebnisse wurde allo-Pregnandion (XV) in alkoholischer Lösung bis zur Sättigung hydriert, wobei es unter Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff in ein Gemisch der am C_3 isomeren allo-Pregnanolone überging. Neben dem schon bekannten (30) n-allo-Pregnanolon (XVII) entstand in geringer Menge (5 bis 10 %) das gewünschte epi-allo-Pregnanolon (XVI). Die Trennung der epimeren Reduktionsprodukte gelang durch Digitonin, das mit n-allo-Pregnanolon eine schwerlösliche Additionsverbindung bildet. Aus dem Filtrat konnte das epi-allo-Pregnanolon isoliert werden.

Wie seine Analyse und optische Drehung $[\alpha]_D^{21} = +98{,}5^0$ (epi-allo-Pregnanolon: $+87{,}7^0$ [31], allo-Pregnandion: $+126{,}9^0$ [30]) aussagten, war das Rohprodukt durch unumgesetztes allo-Pregnandion verunreinigt. Dieses ließ sich durch chromatographische Adsorption an Aluminiumoxyd abtrennen.

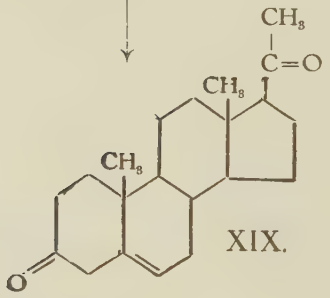
Epi-allo-Pregnanolon (XVI) krystallisiert aus verdünntem Alkohol in farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 173 bis 174° (Literatur: 176°), beim Erhitzen mit Essigsäureanydrid liefert es sein Acetat vom Schmelzpunkt 139 bis 140° (Literatur: 141 bis 142°). Auf Grund dieser weitgehenden Übereinstimmung der Daten, ferner auf Grund der Analysenwerte kann als erwiesen gelten, daß das epi-allo-Pregnanolon (XVI) auch auf dem oben aufgezeigten Weg zugänglich ist.

Inzwischen hat diese Methode eine Bestätigung durch eine kürzlich erschienene Arbeit von Fleischer, Schwenk und Whitman (31) erhalten, die ebenfalls durch partielle Hydrierung von allo-Pregnandion epi-allo-Pregnanolon erhielten. Die amerikanischen Autoren arbeiteten nach der Vorschrift von Dalmer und Mitarbeiter (32) mit Platinoxyd als Katalysator in Eisessig-Bromwasserstoff bei 60°.



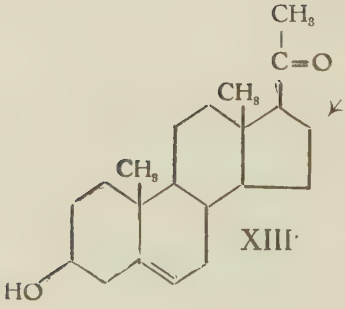
XIII.

Br_2, CrO_3 | anschließend Zn/Methanol

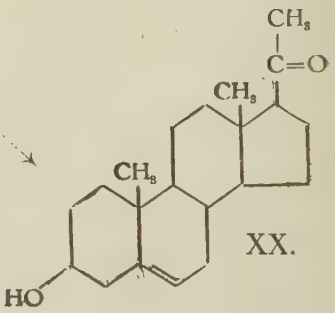


XIX.

1 Mol. H_2 | Raney-Nickel/Alkohol



XIII



XX.

Versuch zur Darstellung von epi-Δ^5-Pregnenolon.

Es wurde noch versucht, auf ähnliche Weise das bisher nicht bekannte epi-Δ^5-Pregnenolon (XX) darzustellen, dem möglicherweise androgene Wirksamkeit zukommen könnte. Diese Verbindung würde dem von Ruzicka (33) dargestellten epi-Dehydroandrosteron entsprechen und sollte ebenso durch partielle Reduktion des zugehörigen ungesättigten Diketons zugänglich sein.

Das als Ausgangsmaterial benötigte Δ^5-Pregnendion (XIX) wurde nach der Vorschrift von Westphal und Schmidt (34) durch Oxydation des bromierten Δ^5-Pregnenolons (XIII) mit anschließender vorsichtiger Entbromung dargestellt.

Auch hier bildete bei der partiellen Hydrierung mit Raney-Nickel als Katalysator das n-Δ^5-Pregnenolon das Hauptprodukt, während die an epi-Δ^5-Pregnenolon (XX) entstehenden Mengen für eine Charakterisierung nicht ausreichten. Nach den bei der Darstellung des epi-allo-Pregnanolons gemachten Erfahrungen ist es aussichtslos, die epi-Verbindung zu fassen, wenn zu geringe Mengen an Ausgangsmaterial (es wurde ein Ansatz von 200 mg Δ^5-Pregnendion gemacht) eingesetzt werden. Daher müssen diese Versuche wiederholt werden, wenn mehr von dem instabilen und etwas mühsam zu bereitenden Δ^5-Pregnendion zur Verfügung steht.

Physiologische Untersuchungen.

1. epi-allo-Pregnanolon.

Zur physiologischen Prüfung im Test nach Butenandt und Tscherning (13) erhielt ein Kapaun 2×1 mg in öliger Lösung injiziert; das entspricht einer 5- bis 6fach stärkeren Dosierung als sie für das Androsteron (XVIII) notwendig ist. Trotzdem war keinerlei Kammwachstum festzustellen. Um die Dosierung noch wesentlich zu erhöhen, wurde das epi-allo-Pregnanolon weiterhin im Fußgängertest (14), durch direktes Aufpinseln der öligen Lösung auf den Kamm, untersucht. Man kommt bei dieser Methode größenordnungsmäßig mit dem 100. Teil der von der alten Technik benötigten Menge aus. In zwei Versuchen blieb das epi-allo-Pregnanolon, mit je 300 γ an fünf aufeinanderfolgenden Tagen verabfolgt, vollkommen wirkungslos. Das Androsteron ruft im Fußgängertest mit 5×1 γ ein Kammwachstum von 30 % hervor, so daß also das epi-allo-Pregnanolon noch in 300facher Überdosierung ohne Wirkung bleibt. Dabei müßte es gerade am Kapaun höchstwirksam sein, denn nach den Angaben Markers (22) kommt es im Harn mit etwa 500 γ pro Liter („2 mg pro Gallone") vor. Nach einer Untersuchung von Tscherning (35) enthält aber normaler Frauenharn 6 bis 18 Kapauneneinheiten im Liter.

Ferner wurde das epi-allo-Pregnanolon im Vesiculardrüsentest (15) untersucht. In Gaben von 8×1 mg und 8×3 mg erwies es sich als unwirksam. Die Einheit des Vesiculardrüsentestes beträgt für Androsteron 8×1 mg, für Testosteron 8×100 γ. Auch Marker und Mitarbeiter haben den Stoff im Vesiculardrüsentest geprüft, und zwar nach den bis jetzt vorliegenden Veröffentlichungen nur durch „growth of the seminal vesicle in the rat tests" (23). Da sie also lediglich das Größenwachstum der Samenblasen beobachteten, ist anzunehmen, daß sie sich durch eine nicht spezifische Zunahme des Bindegewebes täuschen ließen, während die histologische Untersuchung in solchen Fällen zeigt, daß keinerlei Entwicklung der Drüsenzellen eingetreten ist. Aus

diesen Tierversuchen folgt, daß das epi-allo-Pregnanolon, entgegen der Ansicht Markers, nicht für die männliche Wirkung des Frauenharnes verantwortlich sein kann.

2. Übrige Pregnanstoffe.

Die physiologische Auswertung der übrigen Pregnanstoffe geschah ebenfalls im Fußgängertest. Falls genügende Mengen zur Verfügung standen, betrugen die Dosierungen 5×300 γ. Keine dieser Substanzen besaß irgendeine Wirksamkeit. Dabei entsprechen diese Verbindungen in ihrem Bau — abgesehen von der Seitenkette — zum Teil einigen hochaktiven männlichen Prägungsstoffen; so das Δ^4-Pregnendion (Progesteron) dem Testosteron, das allo-Pregnandion dem Androstandion usw. Damit erledigt sich auch die Hypothese Markers (25), daß die angebliche Aktivität des epi-allo-Pregnanolons von dessen Verwandtschaft zum Androsteron (XVIII) herrühre.

Tabelle 8.

Substanz:		Dosierung:
n-Pregnandiol-(3,20)	(36)	5×100 γ
epi-Pregnandiol-(3,20)	(37)	5×300 γ
Pregnandion-(3,20)	(37)	5×300 γ
allo-Pregnandion-(3,20)	(37)	5×300 γ
n-Pregnanolon-(3,20)	(37)	5×300 γ
epi-Pregnanolon-(3,20)	(36)	5×300 γ
allo-Pregnanolon-(3,20)	(37)	5×300 γ
epi-allo-Pregnanolon-(3,20)		5×300 γ
Pregnanolon-(20,3)	(37)	5×300 γ
allo-Pregnanolon-(20,3)	(38)	5×300 γ
Δ^4-Pregnendion-(3,20)	(37)	5×200 γ
Δ^5-Pregnendion-(3,20)	(32)	5×300 γ
Δ^{16}-Pregnendion-(3,20)	(39)	5×100 γ
$\Delta^{4,5,17,20}$-Pregnadienon-(3)	(40)	5×100 γ
Δ^4-Pregnenolon-(20,3)	(37)	5×300 γ
Δ^5-Pregnenolon-(3,20)	(37)	5×300 γ
Δ^4-Pregnendiol-(17,20)-on-(3)	(40)	5×100 γ
Pregnandiol-(16,17)-dion-(3,20)	(39)	5×100 γ
Pregnandiol-(4,5)-dion-(3,20)	(41)	5×300 γ

Mehrere Verbindungen konnten noch im Vesiculardrüsentest untersucht werden: auch hier erwiesen sich alle als inaktiv.

Tabelle 9.

Substanz:	Dosierung:
epi-Pregnandiol-(3,20)	8 × 1 mg
Pregnandion-(3,20)	8 × 3 mg
allo-Pregnandion-(3,20)	8 × 3 mg
n-Pregnanolon-(3,20)	8 × 3 mg
epi-Pregnanolon-(3,20)	8 × 3 mg
allo-Pregnanolon-(3,20)	8 × 3 mg
epi-allo-Pregnanolon-(3,20)	8 × 3 mg
Pregnanolon-(20,3)	8 × 3 mg
allo-Pregnanolon-(20,3)	8 × 3 mg
Δ^4-Pregnendion-(3,20)	8 × 3 mg
Δ^5-Pregnendion-(3,20)	8 × 3 mg
Δ^5-Pregnenolon-(3,20)	8 × 3 mg

Schließlich wurden noch zwei Pregnanstoffe auf weibliche Wirksamkeit geprüft. Beide waren inaktiv. Die Dosierungen waren in etwa die gleichen, mit der einige bisexuelle Prägungsstoffe wirksam sind und die 10 000fache, auf Östron bezogen.

Tabelle 10.

Substanz:	Allen-Doisy-Test:	Vaginalöffnungs-test:
Progesteron	4 × 1 mg	6 × 1 mg
Δ^5-Pregnenolon	4 × 1 mg	6 × 1 mg

Beschreibung der Versuche.

allo-Pregnandion.

600 mg Pregnenolon (XIII) wurden in 50 ccm Eisessig gelöst und mit 100 mg Platinoxyd als Katalysator bis zur Sättigung hydriert. Anschließend wurde vom Katalysator abfiltriert und eine Lösung von Chromsäure in Eisessig zugefügt (6 Atome Sauerstoff, berechnet auf 600 mg allo-Pregnandiol [XIVa und b]). Nach 15 Stunden wurde mit 500 ccm Wasser versetzt, das ausgeschiedene allo-Pregnandion (XV) abgesaugt, gewaschen, getrocknet und aus Aceton umkrystallisiert. Ausbeute 540 mg.

Hydrierungsversuch am allo-Pregnanolon.

100 mg allo-Pregnanolon (XVII) wurden in 50 ccm absolutem Alkohol gelöst und 5 Stunden mit der gleichen Menge Raney-Nickel in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Aus der alkoholischen Lösung konnte nur das Ausgangsmaterial (92 mg) zurückgewonnen werden.

Partielle Hydrierung von allo-Pregnandion.

950 mg allo-Pregnandion (XV) wurden in 250 ccm absolutem Alkohol gelöst und mit 600 mg Raney-Nickel als Katalysator bis zur Sättigung hydriert. Nach Beendigung der Wasserstoffaufnahme wurde vom Nickel abfiltriert und das Filtrat auf etwa 90 ccm eingeengt.

Isolierung des epi-allo-Pregnanolons (XVI): Diese heiße alkoholische Lösung wurde mit einer Lösung von 3,6 g Digitonin in 315 ccm Alkohol und 45 ccm Wasser versetzt, worauf sofort die Abscheidung der Additionsverbindung begann. Nach 12 Stunden wurde abfiltriert, das Filtrat mit viel Wasser gefällt und mehrmals ausgeäthert. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Äthers blieb das rohe epi-allo-Pregnanolon (XVI) zurück.

Zur Reinigung wurde es in absolutem Benzol gelöst und durch eine Säule von 5 g Aluminiumoxyd (Brockmann) filtriert. Die durchlaufende Flüssigkeit wurde in Portionen von 5 bis 10 ccm getrennt aufgefangen; in den ersten Fraktionen befand sich reines allo-Pregnandion, zwei weitere Fraktionen enthielten Substanzgemisch, die nächsten schließlich das reine epi-allo-Pregnanolon. Hierauf wurde der Rest des epi-allo-Pregnanolons mit einem Benzol-Methanol-Gemisch (8 : 2) eluiert.

Der reine Stoff krystallisiert aus verdünntem Alkohol in Büscheln farbloser Nadeln, die bei 173 bis 174° (unkorr.) schmelzen.

4,731 mg Sbst.: 13,745 mg CO_2, 4,490 mg H_2O

$C_{21}H_{34}O_2$. Ber. C 79,19 H 10,76

Gef. C 79,24 H 10,62

Isolierung des n-allo-Pregnanolons: Das Digitonid (3,98 g) wurde in 60 ccm trocknem Pyridin gelöst und mit 300 ccm absolutem Äther versetzt. Die Aufarbeitung, die in der üblichen Weise erfolgte, ergab 690 mg n-allo-Pregnanolon (XVII), das durch Mischschmelzpunkt identifiziert werden konnte.

epi-allo-Pregnanolon-acetat.

Nach ½stündigem Kochen von 40 mg epi-allo-Pregnanolon mit 2 ccm Essigsäurehydrid und anschließendem Versetzen der Reaktionslösung mit Wasser krystallisierte das Acetat sofort aus. Menge des Rohproduktes: 40 mg. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol betrug der Schlmezpunkt 139 bis 140° (unkorr.).

5,053 mg Sbst.: 14,190 mg CO_2, 4,480 mg H_2O

$C_{23}H_{36}O_3$. Ber. C 76,61 H 10,06

Gef. C 76,59 H 9,92

Partielle Hydrierung von Δ^5-Pregnendion.

200 mg Δ^5-Pregnendion (XIX) (Darstellung nach Westphal und Schmidt [34]) wurden in 60 ccm absolutem Alkohol gelöst und nach Hinzufügen von 200 mg Raney-Nickel einer partiellen Hydrierung unterworfen. Die für 1 Mol. berechnete Wasserstoff-

menge war nach 15 Minuten aufgenommen. Die alkoholische Lösung wurde vom Katalysator befreit, auf etwa 20 ccm eingeengt und in der Hitze mit einer Lösung von 600 mg Digitonin in 50 ccm Alkohol und 10 ccm Wasser versetzt. Nach einigen Minuten begann die Abscheidung der Digitoninadditionsverbindung, die nach 24 Stunden beendet war.

Isolierung des n-Δ^5-Pregnenolons: Das Zersetzen des Digitonids (520 mg) mit 20 ccm trocknem Pyridin und 200 ccm absolutem Äther und die Aufarbeitung ergaben 90 mg n-Δ^5-Pregnenolon (XIII), das durch Mischschmelzpunkt identifiziert wurde.

Versuch zur Isolierung des epi-Δ^5-Pregnenolons: Der nicht mit Digitonin gefallene Anteil der alkoholischen Lösung wurde durch Extrahieren mit Äther und anschließendes Verdampfen des Lösungsmittels gewonnen. Der Rückstand (70 mg eines weißen Pulvers) wurde in absolutem Benzol gelöst und in einer Säule von 2 g Aluminiumoxyd (Brockmann) chromatographiert. Hierbei konnte neben unverändertem Δ^5-Pregnendion (XIX) nur etwas farbloses Öl erhalten werden, das nicht zur Krystallisation zu bringen war.

Zusammenfassung.

Das Ergebnis der Arbeiten ist folgendes (42):

1. Die Angaben Markers über die hohe männliche Wirksamkeit des epi-allo-Pregnanolons haben sich nicht bestätigt.

2. Keiner der zahlreichen außerdem geprüften Pregnanstoffe besitzt irgendeine physiologische Aktivität.

Damit kann wohl als ausgeschlossen gelten, daß ein Verwandter des Corpus-Luteum-Hormones für die männliche Wirksamkeit des Frauenharnes verantwortlich ist, vielmehr wird man nach wie vor das Testosteron oder eine ähnliche Verbindung als Ursache annehmen müssen.

Diese Annahme ist inzwischen von N. H. und R. K. Callow (43) bestätigt worden, die aus Frauenharn Androsteron (XVIII) und Dehydroandrosteron (VII) isolieren konnten.

Literaturübersicht.

1. Butenandt und Hanisch, B. **68,** 1859 (1935), Ztschr. physiol. Chem. **237,** 89 (1935);
   Ruzicka und Wettstein, Helv. chim. Acta **18,** 1264 (1935).
2. Butenandt, Tscherning und Hanisch, B. **68,** 2100 (1935).
3. A. **444,** 221 (1925); Ztschr. angew. Chem. **39,** 138 (1926).
4. Schoenheimer und Evans, Journ. biol. Chem. **114,** 567 (1936).
5. Biochem. Journ. **23,** 47 (1929).
6. Journ. biol. Chem. **114,** 572 (1936).
7. Stavely und Bergmann, Journ. org. Chem. **1,** 575 (1937).
8. Ruzicka, Goldberg und Boßhard, Helv. chim. Acta **20,** 542 (1937).
9. Marker und Oakwood, Journ. Amer. chem. Soc. **59,** 2708 (1937).
10. Skau und Bergmann, Journ. Amer. chem. Soc. **60,** 986 (1938).
11. Unveröffentlichte Versuche von H. Dannenberg, aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.
12. Burrows, Cook, Roe u. Warren, Biochem Journ. **31,** 950 (1937).
13. Ztschr. physiol. Chem. **229,** 167 (1934).
14. Technik: Voß, Klin. Wchschrft. **16,** 769 (1937).
15. Technik: Butenandt und Kudßus, Ztsch. physiol. Chem. **237,** 86, (1935).
16. Technik: Butenandt und Ziegner, Ztschr. physiol. Chem. **188,** 1 (1937).
17. Durupt, Compt. rend. Soc. Biol. **126,** 382 (1937).
18. Butenandt, Bull. Soc. chim. biol. **19,** 1486 (1937).
19. Butenandt und Hanisch, Ztschr. physiol. Chem. **237,** 95 (1935).
20. Butenandt und Heusner, B. **71,** 198 (1938).
21. Vgl. die Zusammenfassung von Miescher, Angew. Chem. **51,** 551 (1938).
22. Marker, Kamm und McGrew, Journ. Amer. chem. Soc. **59,** 616 (1937).
23. Marker, Kamm, Jones, Wittle, Oakwood und Crooks, Journ. Amer. chem. Soc. **59,** 768 (1937).
24. Loewe, Voß und Rothschild, Biochem. Ztschr. **273,** 214 (1931); Koch, Journ. Amer. med. Assoc. **96,** 937 (1931).

25. Marker, Kamm, McGinty, Jones, Wittle, Oakwood und Crooks, Journ. Amer. chem. Soc. **59,** 1367 (1937); Marker, Kamm u. Jones, Journ. Amer. chem. Soc. **59,** 1595 (1937).
26. Angew. Chem. **51,** 495 (1938); Butenandt und Heusner, Ztschr. physiol. Chem. **256,** 236 (1938).
27. Hartmann und Locher, Helv. chim. Acta **18,** 160 (1935).
28. Butenandt und Fleischer, B. **68,** 2094 (1935).
29. Organische Synthesen (organic syntheses), Seite 463; Bruce, Journ. Amer. chem. Soc. **58,** 687 (1936).
30. Butenandt und Mamoli, B. **67,** 1897 (1934), B. **68,** 1848 (1935).
31. Journ. Amer. chem. Soc. **60,** 79 (1938).
32. Dalmer, v. Werder, Honigmann u. Heyns, B. **68,** 1823 (1935).
33. Ruzicka und Goldberg, Helv. chim. Acta **19,** 1409 (1936).
34. B. **69,** 889 (1936).
35. Ergebn. d. Physiol. Bd. 35, 307.
36. Butenandt und Müller, B. **71,** 194 (1938).
37. Lettré-Inhoffen, Über Sterine und Gallensäuren, Seite 268—275.
38. Unveröffentlichte Versuche von G. Hanisch und J. Heer aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.
39. Diss. Masch, Danzig 1938.
40. Butenandt, Schmidt-Thomé und Paul, B. **71,** 1313 (1938).
41. Butenandt und Wolz, B. **71,** 1483 (1938).
42. Vgl. dazu: Tagungsbericht d. mitteldeutschen und ostdeutschen Chemiedozenten, „Nachwort" Butenandt, Angew. Chem. **51,** 495 (1938).
43. Biochem.-Journ. **32,** 1759 (1938).

Lebenslauf.

Am 23. Mai 1913 wurde ich als Sohn des Chemikers Dr. Karl Heusner und seiner Ehefrau Marta, geb. Gilles, in Köln-Mülheim geboren. Ich besuchte die Volksschule in Leverkusen und anschließend neun Jahre lang das dortige Carl-Duisberg-Realgymnasium, das ich Ostern 1931 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Im Laufe meines Studiums war ich 8 Semester in Freiburg immatrikuliert, je 1 Semester in Kiel, Heidelberg und Danzig und 2 Semester in Berlin. Das erste Verbandsexamen legte ich im Wintersemester 1934/35 in Freiburg ab, das zweite zu Ende des Sommersemesters 1936 in Danzig. Im Jahre 1935 habe ich zwei Monate im wissenschaftlichen Laboratorium der I.G. Farbenindustrie in Leverkusen gearbeitet und im Jahre 1936 einen Monat in der dortigen Volontärfärberei. Vom 1. Dezember 1936 bis zum 1. August 1938 bin ich mit der Anfertigung meiner Doktorarbeit beschäftigt gewesen.

Meine akademischen Lehrer waren:

in allgemeiner und anorganischer Chemie: W. Fischer, Kohlschütter, Staudinger, Zintl, Klemm,

in organischer Chemie: F. G. Fischer, Alder, Diels, Freudenberg, Ziegler, Butenandt,

in physikalischer Chemie: Böhm, v. Hevesy, Fischbeck, Jellinek,

in Physik: Mie,

in Botanik und Pflanzenphysiologie: Oltmanns, Diels, Noack.